



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<p>(51) International Patent Classification ⁵ : A01N 1/02, A61B 17/00, 19/00 A61F 5/44, 5/453, 5/455 A61F 6/04, 6/08, A61J 1/10 A61J 1/12, A61K 31/015, 45/08 A61L 2/18, 15/00, A61M 5/32</p>	A1	<p>(11) International Publication Number: WO 90/07876</p> <p>(43) International Publication Date: 26 July 1990 (26.07.90)</p>
<p>(21) International Application Number: PCT/US90/00398</p> <p>(22) International Filing Date: 18 January 1990 (18.01.90)</p> <p>(30) Priority data: 299,971 19 January 1989 (19.01.89) US</p> <p>(71) Applicant: NEW YORK UNIVERSITY [US/US]; 70 Washington Square South, New York, NY 10012 (US).</p> <p>(72) Inventors: MERUELO, Daniel ; 9 Country Club Road, Scarborough, NY 10510 (US). LAVIE, Gad ; 21 East 15th Street, New York, NY 10003 (US).</p>		<p>(74) Agents: FRANKFORT, Howard, M. et al.; Darby & Darby, 805 Third Avenue, New York, NY 10022 (US).</p> <p>(81) Designated States: AT (European patent), AU, BE (European patent), CA, CH (European patent), DE (European patent), DK (European patent), ES (European patent), FI, FR (European patent), GB (European patent), IT (European patent), JP, KR, LU (European patent), NL (European patent), NO, SE (European patent).</p> <p>Published With international search report.</p>
<p>(54) Title: BIOLOGICAL FLUIDS PURIFICATION SYSTEMS</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The present invention provides compositions, articles and methods for inactivating viruses present in whole blood and other body fluids. The method comprises contacting the body fluids with an effective amount of an antiviral compound. Blood bags, vacuum blood tubes, condoms, spermicidal jellies and vaginal lubricants containing effective amounts of the antiviral compounds are also provided.</p>		

⑪ 特許出願公表

平3-504815

*

(全 18 頁)

④國際公開日 十2(1950)7月20日

[最終頁に続く](#)

食料に重要視せしむる商品。

8. 請求の範囲第2項ないし第7項のうちのどれか一つの項に記載の製品であって、前記有効量、前記容許量に入れられた前記生物学的媒体に存在するヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに十分な前記抗ウイルス性化合物の分量であることを特徴とする請求。

9. 酒水の瓶開閉し頃配飲の製品であつて、當配ウイルスはヒト及び家畜化された哺乳類動物のエンペローブを有するウイルスからなる群から選択されるものであることを特徴とする製品。

10. 生物学的な抗体を保持する抗体と前記ウイルスと不溶性化合物とからなる試料のウイルスの有無を判定する試料のウイルス性化合物とからなる試料において、前記化合物は、アモニウムポリサイクリクワジオンと、膜アロマトクサポリサイクリクワジオンの両方体、異性体、同分異体または膠合体と、それらの混合物とから選択される少なくとも一つの化合物であり、前記化合物は、前記抗体が前記手段に保持される際に、前記抗体と前記化合物が複合するようにして前記手段の表面を被覆する際に前記化合物が利用されていることを特徴とする製品。

11. 生物学的製剤を保持するための手置を含む装置に存在するウイルスの感染性を除却するための方法であって、該方

法は前記手段と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とを接触させる方法を含むことを特徴とするウイルス感染除去方法。

12. 請求の範囲第11項記載の方法であって、前記ウイルスはヒト免疫不全ウイルスであることを特徴とするウイルス感染除去方法。

13. 請求の範囲第11項記載の方法であって、前記ウイルスはHTLV-Iであることを特徴とするウイルス感染除去方法。

14. 産種子用と、抗ウイルスの有効量の抗ウイルス性化合物とからなることを特徴とする組成物。

15. 請求の範囲第14項記載の組成物であって、前記有効量はエンベロープを有するウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

16. 請求の範囲第14項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、アロマトックポリサイクリックアジソンであることを特徴とする化合物。

17. 請求の範囲第15項記載の組成物であって、前記有効量はレトロウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

24. 請求の範囲第23項の組成物であって、前記生物学的媒体は血液と、輸血可能な血液成分とからなる部から選択されることを特徴とする組成物。

25. 請求の範囲第22項記載の組成物であって、前記生物学的媒体は培養液であることを特徴とする組成物。

26. 請求の範囲第21項ないし第25項のうちのどれか一つの項に記載された組成物であって、前記有効量は前記生物学的媒体に存在するヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量で、かつ前記抗ウイルス性化合物はアロマトックポリサイクリックアジソンであることを特徴とする組成物。

27. 請求の範囲第26項記載の組成物であって、前記アジソンはヒペリシンとシュードヒペリシンとから選択されるものであることを特徴とする組成物。

28. 前記手段と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とからなることを特徴とする組成物。

29. ウイルスに汚染されたであろう生物学的媒体と接触するための装置と、前記ウイルスを不活性化させるのに有効な量の抗ウイルス性化合物とを含む製品において、前記媒体が前記装置に接触するに際して前記化合物が前記媒体に接触するようにして、前記化合物が前記製品に処理され

18. 請求の範囲第17項記載の組成物であって、前記有効量はヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

19. 請求の範囲第18項記載の組成物であって、前記組成物はヒペリシンであることを特徴とする組成物。

20. 請求の範囲第18項記載の組成物であって、前記有効量は細胞膜融合によるヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

21. 生物学的媒体と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とを含むことを特徴とする組成物。

22. 請求の範囲第21項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、ヒペリシン、シュードヒペリシン、異性体、類似体、同異体、誘導体およびそれらの混合物とからなる部から選択される生理学的に許容できる量であることを特徴とする組成物。

23. 請求の範囲第21項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、アロマトックポリサイクリックアジソンと、該アロマトックポリサイクリックアジソンの類似体、異性体、同異体または誘導体と、それらの混合物とから選択される生理学的に許容できる量であることを特徴とする組成物。

ていことを特徴とする製品。

30. 請求の範囲第29項記載の製品であって、コンドームであることを特徴とする製品。

31. 生物学的媒体を保持する手段と、前記ウイルスを不活性化させるための抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とからなる製品において、前記化合物は、アロマトックポリサイクリックアジソンと、該アロマトックポリサイクリックアジソンの類似体、異性体、同異体または誘導体と、それらの混合物とから選択される生理学的に許容できる量であり、前記化合物は、前記媒体が前記手段に保持される際、前記媒体と前記化合物が接触するようにして前記手段の端角を磨削し前記化合物が処理されていることを特徴とする製品。

明 細 書
血漿浄化システム

発明の背景

この発明は、血液などの液体、そして一般的には生物学的液体中に存在するウイルスとレトロウイルスとを不活性化させるための組成物と方法、さらにその方法を実施するうえで用いられる製品に関するものである。

エイズの原因となるヒト免疫不全ウイルス(HIV)は、血液中のウイルス感染リスクの高い環境下にある人々(ハイスタググループ)の間に急激に広まっている。このHIVは血液学的に5つの血清型(セロタイプ)が同定されており、それぞれHIV-1及びHIV-2と命名された。HIVに感染された患者は、血液、尿、唾液、涙、精液および母乳からウイルスが検出される。これらの液体中におけるウイルスの存在は、ウイルス感染者の血液のみならず、感染者に接する医療関係の人々の健康も脅かしている。

HIVによって汚染された血液または血液製剤の輸血によるHIV感染に関しては多くの報告がある。米国では、輸血によるHIV感染に関する報告が1,000以上もなされている。さらに、血液銀行での日常的HIVスクリーニングが実施されるまでの間(1978年から1984年までの間)では12,000以上の人が輸血によってHIV感染されたと考えられている。このHIV感染はHIV汚染血液または血液製剤の輸血を受けた患者

イト、NF-40のような殺菌剤、加熱、加または高pHがHIVの不活性化に用いられている。これらの薬剤はHIVのウイルス複製等必要な要素または感染性ウイルス粒子の減少に対して不安定な結果を示す。しかしながら、これらの技術は既知のHIV感染に感染した患者検査、特に血液の検出力を維持することまたは試料中に存在するHIV以外の感染性物質を維持することを基本としている臨床試験を妨害する。また、これらの技術は輸血に用いる血液または血液製剤に適用することは容易ではない。さらに、血液や他の液体、または臓器に感染された血液または血液製剤の輸血を行なう医療関係者が、既知の薬剤を取り扱うことは危険であるとはいえない。

ノンオキシノール-9 (ノニルフェノキシプロパノール) またはモノオキシノール-9 (モノニルフェノキシプロパノール) と他の殺菌剤を有する化合物をコンドームの開発剤として、あるいはコーティング剤として用いることによって、HIVを不活性化することが報告されている。

ノンオキシノール-9 の、フリーのウイルスに対する有効量は、0.03% (vol/vol) 以上である。しかし、ノンオキシノール-9 はHIV感染細胞内に存在するウイルスに対しては効果を示さない。

したがって、従来から知られていたことは、生物学的液体中に存在するウイルス粒子、特にHIVのようなレトロウイルスを不活性化すること、かつこのような汚染された生物学的液体によってヒトがウイルス感染される前に、ウイルスを不活性化してしまふための方法である。

の90-100%に達する。しかし、1985年に日常的HIV感染率の試験がなされるようになったにもかかわらずHIVのスクリーニング方法に限界があるため、輸血によるHIV感染の危険性(リスク)は極めて高い。現在の試験方法(HIVに対する液体のスクリーニングも含む)では、感染後6週間経過後は患者とHIVの保持者は時としてHIV感染の程度にかかわらず検査結果が(-)として扱われることからHIV感染血液検査(ドナー)を同定することは困難である。

さらに、注射針や破断された血液によって偶然に感染してしまった医療関係者は他のハイスタググループを形成するものであるが、スクリーニングの対象から外されており、試験の限界を示している。

他のハイスタググループは、HIV感染者と性交するセックスパートナー達である。HIVに汚染された精子によるHIVの伝染は、明らかに性交によるHIVの伝染よりも重要視されている。しかし、HIVに汚染された尿、便または唾液による感染に関しては何ら報告がなされていないことから、これらの液体による感染の危険性は低いと考えられる。

多くの化学的および物理的方法が生物学的液体またはそのような液体を処理するために用いられるが、HIVを不活性化させるために用いられるべきだ。

市販されている感染防止剤(例えば、商品名:ライソル; LYSOL)のみならず、エタノールまたはイソプロパノールのようなアルコール類、パラホルムアルデヒド、塩素化したカルミン、ヒドロジエンパーオキシド、ハイポクロ

このことから、本発明の目的の一つは、血液または他の液体に存在するであろうウイルス、特にレトロウイルスを不活性化させるための方法、手段および組成物を提供することである。

このような本発明の目的は、本願の記載内容、特許請求の範囲および図面を用いることによって、当業者が容易に理解されることだろう。

本発明の要約

本発明の一端は、生物学的液体と、抗ウイルス(及び/または抗レトロウイルス)の有効量からなる抗ウイルス性化合物と保持する手段を含む製品に関するもので、この抗ウイルス性化合物は抗ウイルス性アロマチックポリオキソリゾンと、その異性体、同量体、類似体または誘導体と、書記ゾンの塩と、それらの組み合わせともの上からなる群から選択される少なくとも一つ化合物であり、また有効量は生物学的液体が保持手段中に含まれる際に示される抗ウイルス的(及び/または抗レトロウイルス的)感染阻害効果を示すものである。

図の詳細な説明

第1図は、ウイルスをヒペリシンまたはシュードヒペリシンとともに培養した後に、エイズ患者から分離されたHIVの不活性化を示すグラフである。

第2図は、エイズ患者から得た培養液HIVの感染性に対するヒペリシンまたはシュードヒペリシンの効果を示すグラフである。

第3図は、感染AQR細胞から出発する放射自標ウイルス(Radiolabelled Lentokine Virus)の感染力をヒペリシンによって阻害することを示すグラフである。

発明の詳細な説明

本発明において参考とした特許文献、特許および研究論文の文献は、それぞれ括弧書きで本明細書中に記載した。

本発明は特に、生物学的媒体の試料中に存在していると思われるウイルスおよびレトロウイルス、特にHIVの感染性を実質的に減少または完全に阻害することが可能な抗ウイルス性化合物を発見した。この化合物によるウイルスおよびレトロウイルスの感染性の減少または除去は、細胞試料に対して行なわれるほとんどの日常的な臨床検査にせよ阻害に影響を及ぼすものではないことがわかった。そして、ウイルスまたはレトロウイルスを不活性化することに用いることが可能な抗ウイルス化合物は、哺乳動物の血液または血液製

本発明の抗ウイルス性化合物は、容器、異相バク、血液バク、注射針、注射針、チューブまたは他の臨床または研究用器材や、生物学的媒体の採取、保持、保存、加工、運搬または試験に用いられる製品に取り込まれる（または被覆と感染防止に利用される）。本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVの不活性化にも利用できる。また、可能なプラスチックバッグのような血液を保存したり輸血したりするための器具や臨床に化合物が被覆取り込まれることによって、輸血に利用されるヒト血液製剤に存在する他のレトロウイルス（ウイルスと同様に）の不活性化に利用できる。他の利用方法として、本発明の抗ウイルス化合物は男性および女性避妊器具および避孕に用いられることによって、種族および種族に含まれるHIVと他のレトロウイルスとウイルスとを不活性化させ、そのようなウイルスの性交による感染を阻害することが可能である。

抗ウイルス化合物は、ウイルスとレトロウイルスとの不活性化に関して幅広い効果を示すもの、特にエンベロープに覆われたウイルス(enveloped viruses)の不活性化に効果を示す。本発明の化合物にさらされることによって不活性化されるウイルスの種族例としては、HTLV-I、HTLV-II、HTLV-III (HIVとしても知られている)、ヘパチタスB、サイトメガロウイルス、単純ヘルペスウイルスなどである。また、抗ウイルス化合物にさらすことによって不活性化されるものとしてチレンウイルス（例えば、ヤギ腸炎長腸ウイルス、ピスマウイルス、牛白血肉ウイルス、水産性口内炎

物への感染、または輪虫に感染、細菌毒性または他の不適当な事象を引き起こすことなく、抗ウイルス効果を示し上げることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、液体や固体のような生物学的媒体中に存在するHIVに対する阻害を放出する態様に利用されるELISA（酵素免疫吸光測定法）およびウェスタンブロット法を実施する際の助けにはならない。このことは、本発明の抗ウイルス性化合物が、臨床検査で決定される哺乳動物の血液の組成成分または血液化学的組成成分に対して何ら阻害作用を及ぼさないことを示している（下記の実施例3を参照）。また、本発明の抗ウイルス性化合物が生物学的媒体の保存、運搬または加工に用いられる容器や被覆を構成する物品（例えば、ガラス、プラスチック、その他）の透過的または機械的性質（例えば、強度）に影響を及ぼすようなことや、または逆に生物学的媒体と容器との間の有用な相互作用を反応を阻害することはない。

本発明においてウイルス（またはレトロウイルス）の不活性化とは、ウイルスの哺乳動物細胞への感染能力が減少または除去されたことを意味する。そのような不活性化は、細胞融合による感染増殖やウイルス感染と同様にフリーウイルス粒子に關しても該する。よって、ウイルス（またはレトロウイルス）を不活性化するための本発明の抗ウイルス性化合物の量は、ウイルス（またはレトロウイルス）が哺乳動物細胞に感染および（または）侵入することを阻止するのに有効な量であると考えることができる。

ウイルス(VSV、その他)のような動物の病気に関係したウイルスがあげられる。

ここで、“生物学的媒体(Biological fluids)”とは、血液、血清、血液製剤（血漿、血小片、赤血球、低張液、免疫グロブリン、凝固因子、例えば抗血友病因子、またはファン・ビルブラント凝固因子）、精子、唾液、胎盤、胎膜、尿、母乳、羊水、羊水、研究用試薬および製剤などを意味する。

また“抗ウイルス性化合物”とは、生理学的に許容可能な液体、同液体、同液体、液体および凍結乾燥の態様およびそれらの組み合わせで、抗ウイルス性および（または）抗レトロウイルス性活性を有し、この活性によってウイルスおよびレトロウイルスの感染性を除去または減少させることができる化合物を、ポリサイクリックアミン化合物（ヒペリシン、シュードヒペリシン、その他）からなるものである。

ここで“同液体”とは、一つまたは複数の炭素原子と、一つまたは複数の水素原子または水素原子付（非限定の異相性である下記の化合物XVIおよびXVIIの場合を参照）；また本発明の特許2,707,704号にもとづいて合成された化合物の族の左に縮合中にある化合物と、この化合物のR基がエチル及び（または）水素原子に置換された同一族（homologs）と、バンクスらの論文(Banks, H.J. et al., infra cit.)に開示された化合物および化合物10を（見よ）を含むものである。

“異液体”は、本発明のポリサイクリックアミン化合物

オンと同一分子式を持つ化合物を意味するもので、非限定的には、構造異性体、錯体異性体、位置異性体、光学異性体および立体異性体（例えば、cisおよびtrans、+及び-、dおよびl）（非限定的な例として、バンクスの論文（Banks, R. J. et al., *in* Infra etc.）に開示された化合物17とその異性体、例えば中央にある炭素原子が紙の平面の上側方向と下側方向に位置しているものと、ワイスらの論文（Weiss, U. et al., *in* Infra）の化合物25、これはいくつかの非対称炭素原子とその光学異性体を有するものとを見よ）を含むものである。

* 類似体（アナログ）* は、本ワゾンと同様の能力を有するポリサイクリックアロマチック化合物を含むものである（例えば、ワイスらの論文（Weiss, U. et al., *in* Infra）の化合物13, 21, 22）。

* 誘導体 * は、本ワゾンと構造的にかなり類似しているが、一つまたは複数の置換基をつままたは複数の位置に有する（例えば、ブロッマンらの論文（Brockmann, et al., *in* Infra）に開示された化合物7および9と、個々に特許的に開示された化合物のヒドロキシ化、エステル化、アミル化、置換および他の置換された誘導体を見よ）。なお、抗ウイルス性化合物の非限定的な例をリストは付録IIに記載した。

水性懸濁液に可溶で、生理学的に許容な抗ウイルス性化合物の塩化物（Salts）は、特に好ましいものである。ここで、“塩化物”とは複合塩化物（complex salts）、例えば化合物25）とイオン性塩化物とを意味する。

第1表

既知レトロウイルスの一般物理的特性

保護	同一のサブユニット (300-350) からなる螺旋状ポリアイアミン第一級RNA (60S-70S) ; 5'末端 (m ² ppp ⁵ WmpNp) ; ポリアデニル酸(Cp)末端 ; 3'および5'末端に懸り通し配列 ; ゲノム複合体にRNA依存の対となる
タンパク質	約50%重量 ; p24、内包体タンパク質 ; p26、逆転写酵素 ; c-m, エンベロープタンパク質
炭水化物	約4%重量 ; エンベロープタンパク質に結合
物理化学的特性	シヤロミニ1.16-1.18mg/ml、密度セシウム密度1.16-1.21g/ml ; 脂質溶解、洗剤、および熱による不活性化 (50°C, 30分) ; UVBおよびUVX線照射に対する高度抵抗
形態	球状外包にもれたウイルス体 (直径80-120nm)、膜厚皮層 (直径8nm)、コア膜 (ヌクレオシド) と複合体を形成するリボヌクレオタンパク質を含む20nmコアプレンド

* 生物学的活性保持物品 * とは、ここでは非限定的なもので、血液、真空血液チューブ、試験管、研究用ガラス器具、尿管、コンドームおよび他の設備や製品で、生物学的活性を保護、保持、保存または加工するたりのものを意味する。

* レトロウイルス * とは、ここではRNAゲノムとRNA-依存DNAポリメラーゼ（逆転写酵素）誘導活性を含むウイルスを意味するものである。すべてのレトロウイルスは共通の逆転写的、生物化学的および生理学的特性を有し、一つのウイルス属としてまとめられる。これらのパラメータは第1表にまとめられた。この表は、ワイスらの文献（Weiss, R. et al. eds., *Cold Spring Harbor Press, New York, 1984, p28*）に記載されたものを引用した。

(以下、空白)

上記のレトロウイルスの特性に加えて、HIVのゲノムは少なくとも5つのタンパク質をコードし、これらのタンパク質はTAT、ART/TRS、3'-ORF、SORおよびRとして知られる。

HTLV Iは少なくとも4つのタンパク質をコードするpXゲノムを含む（Solbi et al. Science **228**: 1532-1534, 1985）。

すべてのレトロウイルスは、全体的に共通する化学組成を有する。すなわち一般に、約50-70%のタンパク質、30-40%の脂質、2-4%の炭水化物および約1%のRNAを含む。レトロウイルス粒子のエンベロープは、細胞膜から導出され、全部でなくともその大部分の脂質はウイルス粒子の第一エンベロープに位置している。

レトロウイルスの非限定的な例は、フレンド白血病ウイルス (FV)、放射線白血病ウイルス (R-dLV)、ネコ白血病ウイルス、トリノ白血病ウイルス、そしてヒトT-細胞白血病ウイルス (HTLV) である (HTLV I, II, IIIおよびIV; HTLV IIIはまたヒト免疫不全ウイルスまたはHIVと呼ばれている) である。

HTLV Iは、成人T細胞白血病およびHTLV II 毛細胞白血病を引き起こす。

HTLV IV はシニア免疫不全ウイルスに類似しており、エイズに罹ったアフリカ居住民のなかにおいて発見されたものである。HTLV III との関係は、現在研究中である。

この明確さにおいては、特別に述べない限り、* ライ

ス”または“ウイルス性”は、“レトロウイルス”または“レトロウイルス性”の意味を含むものとして理解される。

本発明の抗ウイルス性化合物は、金魚または生物学的媒体中に含まれるレトロウイルスおよび他のウイルスに感染したHIVの不活性化能を有するものである(すなわち、感染細胞からのウイルスの発生を阻害すると同時にフリーな状態のウイルス粒子の感染性を完全に実質的に減少させるもので、また感染細胞、すなわちフリーな状態のウイルスが存在しないにもかかわらず起こるHIV感染リンパ球と未感染リンパ球との間の融合を介した感染による増殖を阻害する)。

これらの化合物は、ウイルスに直接接触することによってウイルスの不活性化特性を示す。この点ではアジスチニン(A2T)のような感染から細胞の抗ウイルス性阻害物が細胞内にあけるウイルスの複製を阻害する効果を示すのと比べて異なるのである。

下記の実施例1に示すように、ヒペリンは0.77 μg/ml というような低濃度で、HIVを不活性化す。ヒペリン処理は感染における血液使変、例えばCDC、ヘキサロビン、SMA12、その他の結果またはその実施に何ら影響を及ぼさない。また、いくつかの例一または複数の成分を含む混合物の一般臨床使用にも影響を及ぼさないものとされている。

本発明において用いられる抗ウイルス性化合物は、細胞毒性が低く、HIVまたは他のウイルスの感染性を阻害または阻止するのに必要な濃度を用いたとしても、細胞の生命力また

は細胞に対しては実質的に影響を及ぼさない(このことは、ヒト細胞を含む哺乳動物の細胞に対しては *in vivo* 系実験および *in vitro* 系実験のどちらも当てはまる)。従って、ヒペリン処理または本発明の他の抗ウイルス化合物は健康に用いられるヒトおよび動物に使用可能、例えば赤血球、血小板、脾臓、脾臓血液、血液凝固因子、その他の血液または脾臓性に影響を及ぼすものではない。

HIV、HTLV-1に感染したレトロウイルスが感染された細胞の血液に見いだされることが知られている。

また、HTLV-1は、本発明および日本において、T-細胞白血病や神経性疾患などのヒトの病気を引き起こすことが知られている。内臓神経性疾患は山岸(例えば、胃腸ウイルス)によって起こる山岸(例えば、胃腸ウイルス)によって起こることが知られている。しかし、HTLV-1の試験は現在この点を確認した血液では行われていない。一方、本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVとHTLV-1との類似性にもとづいて、また抗レトロウイルス剤としてのアロマトピクゴリやイリナブジン化合物の効果にもとづいて、生物学的媒体、特にヒトおよび動物血液、その他の中に存在するHTLV-1の他のレトロウイルスを不活性化させるのに有効なものであることが期待できる。よって、輸血のために採取した血液は、例えば感染を阻害するのに十分な量のヒペリンを、血液ドナーから採取した血液に用いられる容器に添加することによって、血液採取と同時に感染性ウイルスを除去することが可能である。

下記の実施例3に示すように、ヒペリン処理は血液成分(例えば、血小板、赤血球、脾臓、脾臓グリブリン、抗血凝固因子、その他)の生物学的または治療的機能を破壊または阻害に減少せざるであらうと思われる。さらに、ラビー(Lavie)らの米国特許出願一連番号084,006号(1987年8月10日出版)とメルエロ(Mercello)らの一連番号172,064号(1988年3月23日出版)とに開示された *in vivo* 系でのマウスへのヒペリン投与による実験にもとづいて、本発明の一つまたはそれ以上の抗ウイルス性化合物は、採取された血液に対して添加された場合に、その血液の細胞血球体に対して細胞毒性を及ぼさないで、かつHIVまたは他のウイルスの感染性を阻害に減少させるか、あるいは終了させるだけの十分な量ならぬものであるとされなければならない。

エイズ患者の血液から分離され、H9細胞上で培養されたHIVは、37°Cで1時間、3.7 μg/mlのヒペリン処理によって完全に不活性化した。この不活性化はウイルス逆転写酵素活性(実施例1を見よ)を測定することによって決定された。また、それらのH9細胞培養から得たHIVは、0.77 μg/ml というような少量のヒペリン処理で、増殖における複製能力を喪失した。さらに、ヒペリンの添加(200 μg/mlまでの濃度)は、日常の臨床使用結果およびヘマトログラムパラメーターに顕著な影響を及ぼすことはなかった。56-235 μg/mlのヒペリンもまた、他のHIV感染方法であるHIV感染リンパ球と正常リンパ球との間における細胞融合を阻害した(実施例6を見よ)。シェードヒペリンもまた、

効果的であるが、実質的にヒペリンよりも高い濃度を必要とした(しかし、細胞毒性からみれば、より許容できる)。

与えられた生物学的媒体中に存在するウイルスの感染を効果的に阻害するのに必要な抗ウイルス性化合物の量は、その化合物を単独で使用するか、または2つまたはそれ以上の化合物の最も有効な組み合わせによって決定される。

もちろん、個別ウイルスの感染特性に照準を減少させるか、取り除くであろう本発明の抗ウイルス性化合物の最小有効量を用いることが求められる。また、一つ、二つまたはそれ以上の抗ウイルス性化合物を、生物学的媒体中に存在するウイルスを不活性化するために同時に用いることができる。さらに、特定のウイルスに対して阻害効果を示すような抗ウイルス性化合物またはもっとも効果的な抗ウイルス性化合物は感染から既知の日常的な実験手法によって確かめられる。

本発明の抗ウイルス性化合物は、抗腫瘍剤(タキセル、リン酸、アサクトロースおよびアサクトロース-C20-A)と同様な方法によって血液または他の血液保存容器に適用することができよう。

本発明の抗ウイルス性化合物を血液に入れる方法としては、輸血の日直前に事前に血液袋に注射して入れる方法や、サフライトバグまたはサフライトエクスチェンバグのような分離装置によって取り込ませる方法が考えられる。この分離装置に関しては、米国特許第4,60,013号(1987年6月2日発行)および第3,874,384号(1975年4月1日発行)

に開示されている。このようにして、本発明の抗ウイルス性抗体は、血液成分が血液で調製された後にサチライドまたはチューブから血液成分に供給されることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、内脂質がポリビニルアルコール、ポリエチレン、エチレンエチルアクリレート、エチレンビニルアセテートおよび他の適当なポリマー及びプラスチック(プラスチック化またはプラスチック化せず)などのような素材によってある種の膜の形成に適用できる。

ウイルスの感染性を阻止または顕著に減少させるのに十分な量の抗ウイルス性化合物は、血液、血液成分または他の生物学的媒体を貯蔵容器に取り込ませる前または後に、取り込ませることが好ましい。もちろん、抗ウイルス性化合物が生物学的媒体を採取または保存する容器に添加されるべき時期は、ある特定の生物学的媒体を取り扱う人がもっとも安全な状況におかれるように、可能なかぎり早い段階で加えられておくほうがよい(すなわち、ウイルス汚染がひどい媒体を添加する前)。

生物学的媒体を入れたり、運んだり、保存したり、加工または取り扱うためのほとんどすべての容器、装置または器具の内面は、その媒体に關して血液ウイルスの感染性を低減する働きを備えて(内面には、例えばウイルスに対する抗体によって被覆または被覆する場合は異なる)、本発明の抗ウイルスの効果的量が供給されることが可能である。

生物学的媒体を取り扱う場合のすべてにおいてではないが、血液の採取または患者への輸血に用いられる血液成分を減量し

てから用いることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVまたは他のレトロウイルスまたはウイルスに感染した部品、組織や細胞(例えば、クロマトグラフ膜、研究用容器など)の汚染を除去するために用いられることが可能である。

抗ウイルス性化合物も、ウイルスの感染性を阻止または顕著に減少させるのに十分な量だけ血液成分をチューブまたは容器に加えるにことが好ましい。

抗ウイルス性化合物は、本発明において得られる形態で、または薬学的に許容可能な媒体または希釈剤とともに提供されることが可能である。そのような許容可能な媒体は、例えば、炭水化物、等張液、ポリソルビトール、水、エタノール、イソプロパノール、アルブミンおよび(または)他の血液タンパク質成分、例えば低分子量タンパク質、高分子量タンパク質および他の生物学的媒体が結合または付着した膜があげられる。この膜としては、ホスファチジルセリン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンおよびトリグリセリドのような中性脂質があげられる。さらに脂質混合物として、トコフェロール、レチノイドおよびシクロオクサランがあげられる。

抗ウイルス性化合物(またはそれらの混合物)は、液体、粉末、錠剤、カプセルまたは生物学的媒体に添加されることが可能である。そのような生物学的媒体に可容性の地方に關しては、ラビイ(Lavie)らの米国特許出願一連番号084,008

号(1987年8月10日出願)に開示されている。好ましくは液体の形で添加するのがよい。なぜなら、生物学的媒体に対してもっとも溶解性が高いからである。

特定のウイルス(またはそれらの組み合わせ)の感染特性に対して、顕著な減少効果または完全な阻害効果を示すような抗ウイルス性化合物の有効量は、種別とするウイルス、処理すべき媒体の量、処理時間等によって変動するものである。

本発明の抗ウイルス化合物を一層または複数回用いて生物学的媒体を処理して顕著な減少効果または完全な阻害効果を示すようにするための最小処理時間は約5分間である。

一般に、全血液の一半位あたりに含まれるHIVの約500個レトロウイルスの感染特性を完全に除去するために用いられる抗ウイルス性化合物の量は、100mgまで、好ましくは10mgと約10mgとの間である。例えば、この濃度の量のヒペリチンと等量または血液成分を抽出した場合、全血を抽出したヒペリチンと等量または血液成分を抽出した場合、全血を抽出したヒペリチン100mgの濃度を投与しても、全血に副作用は生じなかった。この量は、ヒペリチンに換算すれば25mg投与されたこと、または全血液1単位当たり2.3μg/mlのヒペリチンを輸血によって投与されたことに相当する。さらに、例えばマウスに10%エタノール含有リン脂質膜(PSB)に含まれる1.2mgのヒペリチンを投与しても、顕著な減少効果または完全な阻害効果を示すようにするための最小量を加えるのがよい。この最小量は従来から既知の日常の実験によ

って容易に求められよう。)。

よって、本発明の方法は抗ウイルス性および(または)抗レトロウイルス性効果を示す抗ウイルス性化合物を生物学的媒体とともにインキュベートすることを有するもので、抗ウイルス性抗体は、ヒペリチン、シェードヒペリチン、異性体、同族体、類似体、誘導体、塩またはそれらの組み合わせ(特許Aに示したように)からなる群から選択されるもので、これによって生物学的媒体中に存在するウイルス(特にレトロウイルスおよびHIVを含む)の感染特性を除去または顕著に減少させるものである。

本発明の方法実施に好ましく用いられる抗ウイルス性化合物であるヒペリチンとシェードヒペリチンとは、ラビイ(Lavie)の米国特許出願一連番号084,008号(1987年8月10日出願)に記載されている。ラビイ(Lavie)の米国特許出願一連番号084,008号(1987年8月10日出願)の植物からの抽出によって得ることができることが開示されている。また、ヒペリチンは化学合成によって得ることが可能で、カメロン(Chameros)らの文獻(Cameron et al., *Austral. J. Chem.*, 29: 1509, 1976)とスピッター(Spittner)らの文獻(Spittner, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 16: 46, 1977)に開示されている。それらの化合物の異性体、同族体、類似体、誘導体および塩は、従来から既知の方法によって得ることが可能であろう。付録Aに示された抗ウイルス性化合物は、国立予防衛生研究所(N.H.H., Bethesda, MD)にある国立感染症研究所から入手可能である。

実施例1：血液および他の液体中に含まれるHIVを不活性化させるヒバリン(HV)およびシュードヒバリン(PS)

HIVの不活性化に対する本発明の化合物の効果を示すために、血液をHIV血清(+)患者から採取し、その血液を患者の血液のヒバリンおよびシュードヒバリンとともに33°C、1時間処理し、そして未感染H2細胞とともに培養中にインキュベートした。

その後、米国特許局第一送審番号084,008号(1987年8月10日出版)および第172,064号(1988年3月23日出版)に開示されたようにして逆転写酵素活性を決定する。その結果は第1図に示す。

第1図は、感染体からH₂O 0.77 μg/mlおよびPSが100 μg/mlの範囲内で処理されて分離されたHIVの不活性化を示すものである。結果は第1図に示されている。

第1図では、□印は、ヒバリン処理されたHIVを表わし、+印はシュードヒバリン処理されたHIVを表わす。第1図に見られるように、H₂O濃度が2.5 μg/ml以上もしくはPS濃度が100 μg/mlでは、ウイルスの逆転写酵素活性は認められなかった。ウイルスの逆転写酵素活性の不活性化は、この酵素を直接阻害した結果から生ずるものではなく、同様に鳥胚原性ウイルスまたはマウス白血病ウイルスの両方から得た精製逆転写酵素にたいしても何ら酵素活性に対する効果は認められなかった。さらに、0.77 μg/ml以下のヒバリン処

理で、H₂O細胞から得たHIVの一部は、培養での複製能力を喪失した。この結果は第2図に示した。この結果は、ヒバリンがウイルス粒子または細胞が存在している場合を除いて、cDNAを作り出すウイルスの逆転写酵素の活性を直接阻害するものではないことを示している。

実施例2：ヒバリンが血液および他の液体に対する一般の逆転写酵素活性に影響を及ぼさないことについて

正常な2個体から血液を真空チューブに採取し、試料(それぞれ同じものを3つ用意)とした。ひとつの一般の真空チューブには10%エタノール、40%プロピレングリコール、50%水にヒバリンを溶解して最終濃度がヒバリン0.1 μg/ml血液となるようにする。第2の真空チューブの底には、最終濃度がエタノール0.1%、プロピレングリコール0.04%となるようにする。第3の真空チューブの底は、未処理の対照とした。ヒバリン処理および未処理の試料を一般血液化学検査、完全血液像(complete blood count)、および凝集状等の臨床検査に供した。異なる2個体に対するこれらの血液パラメーターにもとづいた試験結果を第2表および第3表に示した。

(以下、空白)

第2表

全血液へのヒバリン添加一般血液化学およびヘマトロジックパラメーターに対する効果の欠如

第1群 "L"	対照	0.1 mg/ml	1.0 mg/ml
WBC/mm ³	8.3	8.1	8.0
リンパ球(lymphs)	24.5%	24.9%	23.8%
赤血球(erythrocytes)	5.0%	4.9%	5.1%
血小板(platelets)	6.0%	6.0%	6.1%
Hct	45.4%	45.7%	46.7%
Hb(g/dl)	12.4	12.8	12.0
MCV	91.3	91.0	93.1
MCH	29.5	29.8	28.6
MCHC	32.6	32.8	30.8
血小板(X 10 ⁹)	222	221	229
ESR mm/hr	3	5	4
PT	10.6/10.8	10.6/10.8	10.6/10.8
APTT	22.3/23.2	22.3/23.2	22.3/23.2
Na ⁺ (mmol/l)	142	140	137
K ⁺ (mmol/l)	4.2	4.2	4.2
Cl ⁻ (mmol/l)	109	106	108
CO ₂ (mmol/l)	23	23	23
BUN(mg/dl)	13	12	12
クレアチニン(mg/dl)	0.9	0.9	0.9
グルコース(mg/dl)	107	107	105
ビリルビン(mg/dl)	0.5	0.5	0.5
アルブミン(g/dl)	6.0	6.1	6.1
尿酸(mg/dl)	5.6	5.7	5.8
アルカリホスファターゼ(U/L)	18	19	18
LDH(U/L)	142	154	153
セリンアミラーゼ(U/L)	7.4	7.5	7.5
アミラーゼ(U/L)	4.9	4.8	4.8
Ca ²⁺ (mg/dl)	10.0	10.1	10.1
アルカリホスファターゼ(U/L)	2.4	2.7	2.8
コレステロール(mg/dl)	249	256	258

第3表

全血液へのヒバリン添加一般血液化学およびヘマトロジックパラメーターに対する効果の欠如

第1群 "L"	対照	0.1 mg/ml	1.0 mg/ml
WBC/mm ³	5.9	6.7	8.4
リンパ球(lymphs)	23.6%	23.1%	23.0
赤血球(erythrocytes)	3.1%	4.8%	8.3%
血小板(platelets)	4.2%	6.3%	8.3%
Hct	36.5%	37.4%	37.3%
Hb(g/dl)	13.3	13.0	13.9
MCV	91.4	91.4	91.3
MCH	31.2	31.4	34.6
MCHC	34.2	34.4	31.7
血小板(X 10 ⁹)	243	217	217
ESR mm/hr	1	1	1
PT	11.7/11.7	11.6/11.6	11.7/11.7
APTT	22.3/22.3	22.3/22.3	22.3/22.3
Na ⁺ (mmol/l)	140	140	141
K ⁺ (mmol/l)	4.5	4.4	4.5
Cl ⁻ (mmol/l)	108	108	108
CO ₂ (mmol/l)	27	27	27
BUN(mg/dl)	10	6	6
クレアチニン(mg/dl)	0.6	0.7	0.8
グルコース(mg/dl)	0.7	0.5	0.6
ビリルビン(mg/dl)	0.0	0.1	0.1
アルブミン(g/dl)	4.4	4.2	4.3
尿酸(mg/dl)	6.1	6.1	3.8
アルカリホスファターゼ(U/L)	17	13	13
LDH(U/L)	115	119	97
セリンアミラーゼ(U/L)	6.4	6.4	6.3
アミラーゼ(U/L)	4.4	4.5	4.4
Ca ²⁺ (mg/dl)	9.8	9.5	9.5
アルカリホスファターゼ(U/L)	3.2	3.0	3.1
コレステロール(mg/dl)	132	133	131

さらに血液、尿およびCSFについて、これらの液体に対する抗ウイルス性化合物の効果を薬理的に調べるための追加実験を行った。細菌または真菌によって感染したと思われる患者について調べた。そのような患者の血液は、適切なように3つの試料に分けた。そのうちの1つを試料1を対照とした。また、他の2つはそれぞれ試料3および試料2としてヒペリシンを添加し、ヒペリシンの最終濃度が試料2では0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、試料3では1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるようにした。これらの3つの試料に對して、細菌および真菌の増殖率についての細菌学的検査の結果を比較した。その結果、対照群とヒペリシン処理とのもので、顕著な差がないと見られる。

実施例3：輸血に用いられるヒト血液成分中に含まれる HIV、HTLV-I、および他のヒトレトロウイルスを不活性化するためにヒペリシンを用いることについて

米国では、HIVに感染された成分輸血によって1,000以上のHIV感染が報告されている。以下の実験は、ヒト血液成分中に存在するHIVを不活性化させるのにヒペリシンを用いることの容易性について明らかにするものである。血液の1/2単位の試料(135ml)を正常血液提供者から採取した。試料1は、0.6mlを処理せずに対照とした。また、試料2はヒペリシンの最終濃度が2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように、血液成分にヒペリシンを625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えた。それぞれの試料から10mlの血液を採取して、HIVおよび肝炎ウイルス系に関する型および交差性(cross matching)、ターム試験、ウイルス血清学的

いて検出の方法によって行なった。

実施例4：HIVおよび他のヒトレトロウイルスの不活性化のためにコンドームおよび精子系成分にヒペリシンを用いることについて

新鮮な精液を正常ドナーから採取して、その精液を培養H9細胞から得た感染力のあるHIV試料(10⁴感染単位/ml)と混合した。そして、この感染増殖試料をヒペリシン処理した。このときのヒペリシン濃度は、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ないし2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲内である。5分間のインキュベーション後、それぞれの試料の一部をH9細胞とともに細胞に添加した。凍蔵時間(例えば、37°Cで1時間)経過後、感染率を統計的に調べた。実施例1)のように、0.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ またはそれ以上のヒペリシンで、完全にウイルスの感染性を完全に不活性化することと思われる。また、同様の実験を、商業的に入手可能なコンドームの殺精子液剤または胎元殺精子剤とヒペリシンとを混合することによって行なった。

コンドームにヒペリシンを取り込んだ場合の効果は、ライトマイヤー(Rietmeijer)らのシミュレーションセッパムによるインビトロ(in vitro)系の実験によって評価することが出来る(Rietmeijer et al., *J. Amer. Med. Assoc.*, **259**: 1851-1853, 1988)。すなわち、HIVを表面に塗布されたコンドーム(対照群はHIVを含まない均等地を塗布したコンドーム)を人工ペニスに装着して、人工ペニスをガラス製シリンダーに挿入する。シミュレーションセッパ

実験を行なった。試料1と試料2とを同時にシリンダーの文庫(Mallison, P. L. et al., *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 3rd Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1987)に記載されたような一般的方法によって、凝縮赤血球(RBC)、凝縮血小板、新鮮血液を得た。凝縮赤血球は、CPD(タニン酸・リン酸・ブキストロス)に25日間保存し、シリンダーの方法(資料、812ページ)にもとづいて生体用(in vivo系)におけるRBCの生存力および活性について調べた。さらに、ヒペリシン処理したRBCは、⁵¹Crによって標識(資料、807-808ページ)し、生体系における自然的な赤血球生存について調べた(モリソン、前掲、102-103ページにもとづく)。ヒペリシン処理したものと未処理のものとは、顕著な差が認められなかった。このことは、哺乳動物およびヒトの細胞に對して、プロマタックポリサキリブクリオンの毒性が未知であることによるとと思われる。ヒペリシン処理した血液の赤血球生存率は正常範囲内だと見られる。試料1(対照群)および試料2(ヒペリシン処理)の凝縮血小板は、室温で凝固および保存され、5日間にわたって凍蔵した(モリソン、前掲、807ページにもとづく)。それぞれの試料について、ADP、エディリン、トロンピン、コラーゲンおよびリストセチンに対する応答としての血小板凝集について機能的な検査を行なった。試料1および2から得た新鮮凍血液系においても同様の実験を行ない、標準的な凝集の指標として、プロトロン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を用

は人工ペニスをシリンダー内で上下移動させることによって、コンドームが破損する位置または位置まで行なう。種々の濃度のヒペリシンを用いて実験し、それぞれの場合について試料をコンドームの外壁および内層から採取する。採取した試料は、ウイルス感染率の活性とウイルス感染性によって調べられる。このようにして、コンドーム使用時に對するヒペリシンによるHIV感染性の阻害が検討できる。

実施例5：ヒペリシンによる感染細胞からのウイルス脱出阻止について

この試験は、ヒペリシンがウイルス感染細胞からのウイルス脱出を阻害することがあるかを検討するために進められたものである。

材料は白血球ウイルス(Marcello, D., *J. Exp. Med.*, **149**: 898-909, 1979; and Bach, R. G. et al., *J. Exp. Med.*, **160**: 270-283, 1984)を産生するAQR(マウス白血球)細胞を種々の濃度の合成ヒペリシン($\mu\text{g}/\text{ml}$)とともに1時間培養した。その後、細胞を細胞培養液で4回洗浄し、新しい培養液24mlまたは48時間培養した。上清を採取して15分間の遠心(1000xg)によって全細胞を沈殿させた。そして、再び上清を100,000xgで1時間遠心させてウイルス粒子を沈殿させた。この遠心によって得た感染性濃縮液を感染率を統計的に測定に供した(測定方法は、米国特許出願一連番号084,008号(8/10/87)および第173,064号(3/23/88)参照)。

近接写像顕微鏡の測定結果は、第3図にプロットした。
AQR細胞からウイルス出芽は、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のヒペリシンを用いた場合、24時間後(□)で完全阻害された。実際、出芽しないフリーのHIVウイルスとヒペリシンとはほんのわずかな時間、すなわし細胞に添加して速く溶解する間だけでもウイルス感染性は顕著な阻害が阻害され、また10分、あるいは5分でも完全阻害が既得された。よって、HIV感染の広がりに関与するHIV感染細胞の能力を破壊するための最小インキュベーション時間は、細胞固定における最小待ち時間としての24時間よりも少なくできる。

実験例5: HyおよびVPsによるHIV感染細胞形成阻害について

HIVの特徴の一つとして、細胞融合に結合し、かつ融合することである。HIVは、エンベロップ糖タンパク質gp120と、ヒトCD4抗体抗原上の高親和性結合部位との特異的相互作用によって基質細胞に結合する。また、in vitro系でのHIV感染細胞融合は、多核化巨細胞または融合細胞(syncytia)を形成する。in vitro系融合は、in vivo系でのウイルス侵入と同様な方法で起こる。

このようなHIVの感染細胞形成阻害に対するHyおよびVPsの効果については、以下の実験によって調べることができる。まず、HIV-1の場合については、細胞融合としての感染細胞Sugi-1細胞(Walker, S.D. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 84: 8120-8124, 1987)と、HIVの単離

されたものであるIIIbに感染されたH9細胞(Popovic, M. et al., *Science* 224: 494-500, 1984)とをともに培養することによって行なった。HIV-2の場合については、細胞融合としての感染細胞H9細胞と、HIV-2の単離されたものであるB2D-2細胞に感染されたHUT78細胞(MNHから得ることである(Depository Catalog, Reagen Program))とをともに培養することによって行なった。

感染細胞は、96穴プレート(10⁴細胞/穴(ウェル))となるように接種し、増殖は10日後に結合含有SPM1 1640増殖を用いた。そして、PsまたはHyの添加されたものを追加または追加せずに37°Cで30分間培養した。一つのウェルあたり 1×10^4 の細胞融合を添加し、24時間後に融合化した細胞を量のおよび質的に調べた。その結果は、第6表に示す。

(以下、余白)

第6表
化合物のHIV感染細胞形成阻害能力について

ヒペリシンの濃度 (濃度はナノグラムで示す)										
	1500	900	450	225	113	56	28	14	7	—
HIV-1	0	0	0	0	0	0	0	3L	4L	—
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
HIV-2	0	0	0	0	0	0	0	3L	4L	—
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
HIV-1	0	0	0	0	0	3M	4L	4L	4L	—
エンベロップ	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L

シュートヒペリシンの濃度 (濃度はナノグラムで示す)										
	3000	1500	750	375	188	94	47	24	12	—
アッセイ HIV-1	18	3M	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	—
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
HIV-2	75	28	3M	4L	4L	4L	4L	4L	4L	—
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
HIV-1	18	3L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	—
エンベロップ	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L
増殖率	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L

第6表では、感染細胞の数、すなわち感染細胞形成の程度を0ないし4の数字で表わした。すなわち、0は感染細胞が認められない状態で、4は多数の感染細胞が観察された状態を示す。

また、感染細胞の大きさも、S (小さい)、M (中間)、L (大きい) で表わした。

上記第5表の結果から、ヒペリシンは $26.125 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で感染細胞形成を阻害することが可能であった。一方、シュートヒペリシンはヒペリシンと同様の阻害効果を示すためには、ヒペリシン濃度の20-60倍の濃度を用いなくてはならない。

また、この実験ではHIV-1のIIIb型のエンベロップタンパク質のみを感染する細胞系統に対しても行なった。この結果は、第6表ではHIV-1 assとして表わされている。このHIV-1 env細胞を感染した濃度のHyおよびVPsで処理し、感染細胞Sugi-1細胞とともに培養した。このような実験によつて、ウイルス侵入過程の阻害を介してもヒペリシンはシュートヒペリシンよりも効果的であることがわかった(第6表)。

(以下、空白)

付 録 A

下記のリストは、ヒペリシン (hypericin) に類似の構造を持つ一連の化合物であり、生物学的活性に存在するウイルスに対して毒性を有すると思われるものである。これらの化合物は米国の国立癌学会 (National Cancer Institute, Bethesda, MD) から入手可能である。またこれらの化合物の特性はワイスらの文献 (Weiss, U. et al. *Progress in Chemistry of Organic Natural Products* **23**: 1-71, 1987) に記載されている。

1. シー・ユー・エス登録番号 (以下, CAS No. と略す)
14543921
2. CAS No. 65336841
3. CAS No. 14642729
4. CAS No. 6336874
5. CAS No. 6941475
6. CAS No. 4478766
7. CAS No. 2013383
8. CAS No. 667914
9. CAS No. 454835
10. CAS No. 3438082
11. CAS No. 24541193
12. CAS No. 10595025
13. [NSC No. 123599-N]

19. [NSC No. 241039-I]

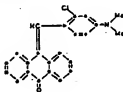


20. CAS No. 27573468

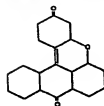
21. [NSC No. 308787-V]



22. [NSC No. 308805-Q]

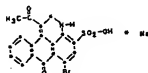


特表平3-504815 (13)



14. CAS No. 69344830
15. CAS No. 35043419
16. CAS No. 71205384
17. CAS No. 52256541

18. [NSC No. 251579-Y]



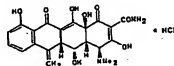
23. [NSC No. 308814-Z]



24. CAS No. 1454934

25. ロンマイシン (Ronamycin), 2-ナフトセキカル
ナミド F.

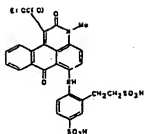
NSC No. 556465-U



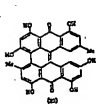
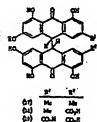
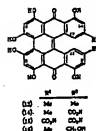
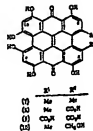
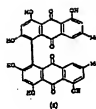
26. CAS No. 81092844

27. CAS No. 81092853

28. [NSC No. 307458-S]



さらに、本発明のアロマチックポリサイタリナジオンとの類似性により、下記のアンスラキノ化合物が生物学的液体中に存在するウイルスに対して活性を呈すると考えられる。これらの化合物6-10および13-25の特性は、バンクスらの論文 (Banks, H.J. et al., Anal. J. Chem. 22: 1509-1521, 1976) に記載されている。



前記化合物6-10および13-25の合成及び(または)単離は、以下の文献に記載されている。

6. スキリン: Anterhoff, H. et al. Arch. Pharm. 293: 850, 1962.
7. ヒベリン: Brockmann, 特開。
8. ヒベリンモノカルボキシル酸: Thompson, R. H. Naturally Occurring Quinones, 2nd Ed. Academic Press, London, 1971; Banks, H.J. et al., Insect Biochem. 2: 159, 1973; Brown, K. S., Chem. Soc. Rev. 4: 263, 1973; Anslow, W. K. et al., Biochem. J. 34: 159, 1940.
9. ヒベリンジカルボキシル酸: Banks, H.J. et al., Anal. J. Chem. 22: 1509-1521, 1976.
10. Banks et al., 特開。
13. プロトヒベリン: 特開。
14. Banks et al., 特開。
15. Banks et al., 特開。
16. Banks et al., 特開。
17. エモジンビアンスロン: Anslow, W. K. et al., 特開。
18. エモジン酸ビアンスロン: Anslow, W. K. et al., 特開。
19. Anslow, W. K. et al., 特開。
20. Banks et al., 特開。
21. インヒベリン: Steglich, W. et al., Angew.

Chem. Ind. Ed. Engl. 13: 79, 1973.

22. 10-ペロキシ-9-アンズロン: Bedford, C. T., Chem. Soc. C. 2341, 1968.

23. ペニシリオプレン: Banks et al., 未掲.

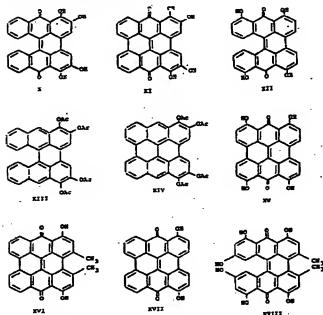
24. ヒペリコージヒドロジアンズロン: Banks et al., 未掲.

25. Banks et al., 未掲.

(以下、空白)

特表平3-504815 (16)

さらに、下記の化合物もまた、ヒペリシンと関連しており、抗ウイルス活性を有すると考えられる。



上記の化合物の合成に関しては、ブロッマンの文献 (Brookman, H. M., Progress in Organic Chemistry, Vol. I, Cook, J. W., ed., p44-53, 1952) に記載されている。



$C_{12}H_{10}$ instead of $C_{12}H_{12}$



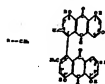
$R = CH_3$



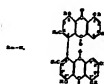
$R^1 = H, R^2 = CH_3$



$CH_3, R^1, R^2 = H, CH_3$



$R = CH_3$



$R = CH_3$



$R = CH_3$



$R = CH_3$



$R = CH_3$



$R = CH_3$

上記化合物の合成は、ブロッマンらの文献 (Brookman, H. et al., Tetrahedron Letters 22: 1991-1994, 1974) に記載されている。

上記化合物の合成に関しては、ブロッマンら (Brookman, H. et al.,) による米国特許第2,707,704号 (1955年3月3日) に記載されている。

第1頁の続き

⑨Int. Cl.⁸

A 01 N 1/02
 A 01 B 3/14
 A 01 F 6/04
 A 01 J 1/05
 A 01 K 31/12
 31/13
 31/16
 31/215
 31/35
 35/14
 45/00
 45/08
 A 01 L 2/26
 15/00
 A 01 M 1/02

識別記号

3 0 0 E

ABD
 ADY

A

序内整理番号

6742-4H
 8532-4C

6971-4C
 6971-4C
 6971-4C
 7475-4C
 8515-4C
 8415-4C
 8415-4C
 7038-4C
 6371-4C
 7720-4C

⑩発明者 ラヴィー、ガフド

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10003 ニューヨーク イースト
 15 ストリート 21